

USE OF 2-TERT.-ALKYLImino-2-DI-C1-4-ALKYLAMINO-1,3-DI-C1-3-ALKYLPERHYDRO-1,3,2-DIAZAPHOSPHORINE FOR O-SUBSTITUTION REACTIONS OF RIBONUCLEOSIDES

Publication number: DE3915462

Publication date: 1990-09-06

Inventor: SPROAT BRIAN DR (DE)

Applicant: EUROP LAB MOLEKULARBIOLOG (DE)

Classification:

- **international:** C07H19/16; C07H19/20; C07H21/00; C07H19/00; C07H21/00; (IPC1-7): C07H19/067; C07H19/167
- **European:** C07H19/16E; C07H19/20; C07H21/00C2; C07H21/00C4

Application number: DE19893915462 19890511

Priority number(s): DE19893915462 19890511; DE19893906864 19890303

Also published as:

 WO9010011 (A1)

[Report a data error here](#)

Abstract of DE3915462

2-tert.-alkylimino-2-di-C1-4-alkylamino-1,3-di-C1-3-alkylperhydro-1,3, 2-diazaphosphorines are suitable for O-substitution of protected ribonucleosides with alkyl, alkenyl or aralkyl groups in the presence of corresponding group-transfer compounds.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

⑯ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑯ Offenlegungsschrift
⑯ DE 39 15 462 A1

⑯ Int. Cl. 5:
C07H 19/167
C 07 H 19/067
// C07H 21/02

DE 39 15 462 A1

⑯ Aktenzeichen: P 39 15 462.9
⑯ Anmeldetag: 11. 5. 89
⑯ Offenlegungstag: 6. 9. 90

⑯ Innere Priorität: ⑯ ⑯ ⑯
03.03.89 DE 39 06 864.1

⑯ Anmelder:
Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie
(EMBL), 6900 Heidelberg, DE

⑯ Vertreter:
Weickmann, H., Dipl.-Ing.; Fincke, K., Dipl.-Phys.
Dr.; Weickmann, F., Dipl.-Ing.; Huber, B.,
Dipl.-Chem.; Liska, H., Dipl.-Ing. Dr.-Ing.; Prechtel,
J., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anwälte, 8000
München

⑯ Erfinder:
Sproat, Brian, Dr., 6900 Heidelberg, DE

⑯ Verwendung von 2-tert.-Alkylimino-2-di-C₁₋₄-alkylamino- 1,3-di-C₁₋₃-alkyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorin für
0-Substituierungsreaktionen von Ribonukleosiden
2-tert.-Alkylimino-2-di-C₁₋₄-alkyl- amino-1,3-di-C₁₋₃-
alkyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorine
eignen sich zur O-Substitution geschützter Ribonukleoside
mit Alkyl-, Alkenyl- oder Aralkylgruppen in Gegenwart der
entsprechenden Gruppenüberträgerverbindungen.

DE 39 15 462 A1

Beschreibung

5 Ribonukleinsäuren sind als Überträger der in der DNA gespeicherten genetischen Information für die Proteinbiosynthese Bestandteil aller lebenden Zellen. Ihrer Struktur und ihrer Chemie kommt deshalb eine hervorragende Bedeutung zu. Eine besondere Bedeutung kommt hierbei der Struktur und der Chemie ihrer Ribonukleosid-Einheiten zu, z. B. zur Strukturuntersuchung und zur Synthese von Modellsubstanzen.

6 Eine Schlüsselrolle spielt dabei die selektive O-Alkylierung von geschützten (mit Schutzgruppen versehenen) Ribonukleosiden.

7 Es ist bekannt, die O-Methylierung mit Diazomethan durchzuführen (vgl. A. D. Broom und R. K. Robins, J. Am. Chem. Soc. (1965) 87, 1145–1146; T. A. Khwaja und R. K. Robins, J. Am. Chem. Soc. (1966), 88, 3640–3643; D. M. G. Martin et al., Biochemistry (1968), 7, 1406–1412; J. B. Gin und C. A. Dekker, Biochemistry (1968), 7, 1413–1420; M. J. Robins und S. R. Naik, Biochemistry (1971), 10, 3591–3597). Diese Verfahren besitzen aber den Nachteil, daß ein sehr großer Überschuß des gefährlichen Diazomethans erforderlich ist, das bekanntlich ein toxisches, hochexplosives und carcinogenes Gas ist; außerdem werden nur schlechte Ausbeuten erhalten, und die Gegenwart von unerwünschten isomeren Methylierungsprodukten erfordert aufwendige Reinigungsschritte. Das bevorzugte Verfahren zur Monomethylierung der 2',3'-Diol-Struktureinheit war deshalb bis jetzt die Verwendung eines Äquivalents Diazomethan in Kombination mit Zinn(II)-chlorid als Katalysator (vgl. M. J. Robins et al., J. Org. Chem. (1974), 39, 1891–1899). Im Fall von Guanosin werden aber auch nach diesem Verfahren schlechte Ausbeuten erhalten, und die Auf trennung der Isomeren ist problematisch; bei der Anwendung dieses Methylierungsverfahrens auf 5'-O-tert.-Butyldimethylsilylguanosin wurden der 2'- und 3'-O-Methylether nach fraktionierter Kristallisation mit Ausbeuten von 13% (2') und 28% (3') erhalten (vgl. G. Ekborg und P. J. Garegg, J. Carbohydr., Nucleosides and Nucleotides (1980), 7, 57–61), und bei Anwendung auf 5'-O-Monomethoxytrityl-N²-isobutyryl-guanosin wurde der 2'-O-Methylether in 30%iger Ausbeute erhalten, wobei das 3'-Isomere chromatographisch entfernt wurde (vgl. H. Inoue et al., Nucleic Acids Res. (1987), 15, 6131–6148).

12 25 In einem anderen bekannten Methylierungsverfahren wird die Kombination von Methyljodid und Silberoxid verwendet (vgl. Y. Furukawa et al., Chem. Pharm. Bull. (1965), 13, 1273–1278); durch die Vermeidung von Diazomethan ist dieses Verfahren sicher und mit geeignet geschützten Ribonukleosiden werden in den Pyrimidinserien gute Ergebnisse erhalten (vgl. T. Kaminura et al., Chemistry Letters (1982), 965–968; C. J. Welch und J. Chattopadhyaya, Acta Chem. Scand. (1983), B37, 147–150; A. Nyilas und J. Chattopadhyaya, Acta Chem. Scand. (1986), B40, 826–830); die mit Purinen erhaltenen Ergebnisse sind schlecht.

13 30 Aufgabe der vorliegenden Erfindung war deshalb die Bereitstellung einer Methode zur selektiven O-Substitution von geschützten Ribonukleosiden, die einfach und gefahrlos durchzuführen und sehr allgemein anwendbar ist und mit der guten Ausbeuten erhalten werden können. Diese Aufgabe wird mit der vorliegenden Erfindung gelöst.

14 35 Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von 2-tert.-Alkylimino-2-di-C_{1–4}-alkyl-amino-1,3-di-C_{1–3}-alkyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorin zur O-Substitution geschützter Ribonukleoside mit Alkyl-, Alkenyl- oder Aralkylgruppen in Gegenwart der entsprechenden Gruppenüberträgerverbindungen.

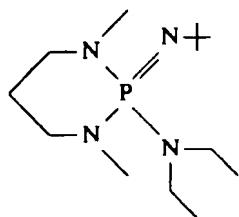
15 40 Im Rahmen der Erfindung wird als geschütztes Ribonukleosid ein solches verstanden, in dem reaktionsfähige H-Atome an nicht zu alkylierenden Positionen des Moleküls Schutzgruppen tragen. Als Alkyl-, Alkenyl- oder Aralkylgruppen übertragende Verbindungen kommen die dem Fachmann bekannten Substanzen wie insbesondere die Halogenide in Betracht.

16 45 Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur O-Substitution geschützter Ribonukleoside mit Alkyl-, Alkenyl- oder Aralkylgruppen, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man die Substitution mit einer den gewünschten Substituenten übertragenden Verbindung in Gegenwart von 2-tert.-Alkylimino-2-di-C_{1–4}-alkylamino-1,3-di-C_{1–3}-alkylperhydro-1,3,2-diazaphosphorin durchführt.

17 50 In dem im Rahmen der Erfindung verwendeten Diazaphosphorin ist in Stellung 2 als tert.-Alkylgruppe eine tert.-Butyl- oder Neopentylgruppe bevorzugt. Die Alkyaminogruppen in Stellung 2, die gleich oder verschieden sein können, weisen 1 bis 4 C-Atome auf und können daher Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Isopropyl- und Butylgruppen sein. In den Positionen 1 und 3 können jeweils unabhängig voneinander Methyl-, Ethyl-, Propyl- und Isopropylgruppen vorliegen. Eine symmetrische Substitution der 2'-Dialkyaminogruppe und der Positionen 1 und 3 wird bevorzugt.

18 55 Erfindungsgemäß ist es möglich, eine selektive O-Substitution geeignet geschützter Ribonukleoside mit wenigstens einer Alkyl-, Alkenyl- oder Aralkylgruppe auf einfache Weise und mit guten Ausbeuten durchzuführen; eine unerwünschte konkurrierende Substitution des Heterozyklus tritt praktisch nicht auf, wenn in diesem etwa vorhandene reaktive H-Atome geschützt sind, und die Verwendung des gefährlichen Diazomethans wird vermieden.

19 60 Die erfindungsgemäß verwendeten Diazaphosphorine, wie z. B. das bevorzugte 2-tert.-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethylperhydro-1,3,2-diazaphosphorin (BDDDP) sind extrem starke, sterisch gehinderte Basen (vgl. R. Schwersinger, Chimia, 39 (1985) 269). BDDDP weist folgende Strukturformel auf:



5

10

Im Falle der O-Alkylierung leitet sich die Alkylgruppe der erfundungsgemäß eingesetzten Alkylierungsmittel, insbesondere der Alkylhalogenide von einer verzweigten oder geradkettigen Alkylgruppe mit 1 bis 7 Kohlenstoffatomen und vorzugsweise mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen ab, und ist z. B. n-Propyl, Isopropyl, Ethyl und insbesondere Methyl.

15

Im Falle der O-Alkenylierung werden zweckmäßig Alkenylierungsmittel verwendet, in denen die Alkenylgruppe 3 bis 7 C-Atome aufweist. Bevorzugt wird Allylbromid verwendet. Unter einer Aralkylgruppe ist auch eine im Arylrest gegebenenfalls substituierte Aralkylgruppe zu verstehen, z. B. 2-Nitrobenzyl. Bei der O-Aralkylierung wird vorzugsweise eine gegebenenfalls substituierte Benzylgruppe eingeführt unter Verwendung eines gegebenenfalls substituierten Benzylhalogenids.

20

Das Halogenid kann Chlorid, Bromid oder Jodid sein. Besonders bevorzugt wird als Alkylhalogenid das Methyljodid eingesetzt.

25

Die Ribonukleoside können sich von einer Pyrimidin- oder Purinbase ableiten, wobei es erforderlich ist, eine NH₂- oder OH-Gruppierung in an sich bekannter Weise in eine gegenüber der O-Substitution inerte Gruppierung zu überführen.

30

Die geschützten Ribonukleoside enthalten die Schutzgruppen im Riboseteil an ein oder zwei OH-Gruppen des Riboserestes, je nachdem, ob eine Mono- oder Disubstitution beabsichtigt ist. Vorzugsweise wird eine Monosubstitution durchgeführt, insbesondere in der 2'-Stellung von 3',5'-O-geschützten Ribonukleosiden. 3',5'-O-(Tetraisopropyldisiloxan-1,3-diy)-geschützte Ribonukleoside werden bevorzugt.

35

Im Falle einer Monosubstitution können die zu schützenden OH-Gruppen durch zwei oder vorzugsweise durch eine gemeinsame Schutzgruppe geschützt sein. Als Schutzgruppen können die dafür üblichen Schutzgruppen eingesetzt werden, wie z. B. tert.-Butyldimethylsilyl, Methoxytrityl und insbesondere Tetraisopropyldisiloxan-1,3-diy.

40

Die O-Substitution wird in einem wasserfreien polaren organischen Lösungsmittel durchgeführt, vorzugsweise in wasserfreiem Acetonitril. Üblicherweise arbeitet man bei Raumtemperatur oder schwach erhöhter Temperatur, z. B. bis ca. 50°C. Zweckmäßigerweise wird unter wasserfreien Bedingungen und unter Inertgasatmosphäre, wie z. B. unter Argon gearbeitet.

45

Das Alkylierungs-, Alkenylierungs- oder Aralkylierungsmittel und das BDDDP werden in der Regel in äquivalenten Mengen oder auch in einem geringen Überschuß bis zu 10% verwendet, bezogen auf das Ribonukleosid.

50

Die Erfindung wird im folgenden am Reaktionsschritt XXIII→XXIV des in der Zeichnung gezeigten Reaktionsschemas veranschaulicht.

55

Im Reaktionsschema gemäß Zeichnung wurden in den einzelnen Reaktionsschritten die folgenden Reagenzien eingesetzt:

- (i) Chlortrimethylsilan und Triethylamin in Dichlorethan;
- (ii) tert.-Butylnitrit und Antimontrichlorid in Dichlorethan bei -10°C;
- (iii) p-Toluolsulfonsäure in Dioxan/Dichlormethan;
- (iv) 2,6-Dichlorphenol, Triethylamin und 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan in Dichloroethan;
- (v) Methyljodid und 2-tert.-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethylperhydro-1,3,2-diazaphosphorin (BDDDP) in Acetonitril (erfindungsgemäß Schritt);
- (vi) 2-Nitrobenzaldoxim und 1,1,3,3-Tetramethylguanidin in Acetonitril;
- (vii) Hydrazin;
- (viii) Raney-Nickel/Wasserstoff;
- (ix) 4-tert.-Butylbenzoylchlorid in Pyridin;
- (x) Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran;
- (xi) 4,4'-Dimethoxytritylchlorid und Triethylamin in Pyridin;
- (xii) 2-Cyanoethoxy-N,N-diisopropylaminochlorphosphin und N,N-Diisopropylethylamin in Dichlorethan.

60

Aus dem Reaktionsschema ist am Beispiel der Synthese des "2'-O-methylguanosine building block" (XXIX; Zwischenprodukt zur Herstellung von 2'-O-Methylguanosin) auch die Schlüsselrolle ersichtlich, die der erfundungsgemäßen O-Substitutionssstufe (XXIII→XXIV) und dem Zwischenprodukt 2'-O-Methyl-3',5'-O-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diy)-2-chlor-6-(2,6-dichlorphenoxy)-purinribosid (XXIV) zukommt. Das Zwischenprodukt XXIV kann auch zur Bildung von basenmodifizierten Analogen des "2'-O-methylguanosine building block" (XXIX) verwendet werden, z. B. zur Bildung der N²-Methyl- oder N²-Dimethyllderivate. Über die Bedeutung der 2'-O-Methyloligoribonukleoside und verschiedener Analoga davon wird bei H. Inoue et al, Nucleic Acids, Res. (1985) Symposium Series No. 16, 165–168; H. Inoue et al, Nucleic Acids Res. (1987), 15, 6131–6148; S. Mukai et al, Nucleic Acids Res. (1988), Symposium Series No. 19, 117–120; H. Inoue et al., Nucleic Acids Res. (1988), Symposium Series No. 19, 135–138; S. Shibahara et al, Nucleic Acids Res. (1987), 15, 4403–4415; H. Inoue et al, FEBS Letters (1987), 215, 327–330 und S. Shibahara et al, Nucleic Acids Res. (1989), 17, 239–252, berichtet.

Beispiel 1

Herstellung von

2'-O-Methyl-3',5'-O-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-2-chlor-6-(2,6-dichlorphenoxy)-purinribosid (XXIV)

5 Zu einer Lösung der Verbindung XXIII des Reaktionsschemas (34,1 g, 60,6 mMol) in 1,2-Dichlorethan (300 ml) wurde eine Lösung von 2,6-Dichlorphenol (9,88 g, 60,6 mMol), 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (340 mg, 3,03 mMol) und Triethylamin (8,43 ml, 60,6 mMol) in trockenem 1,2-Dichlorethan (60 ml) unter Rühren zugefügt. Es bildet sich rasch ein voluminöser Niederschlag von Triethylaminhydrochlorid; Dünnschichtchromatographie an Silicagel in Petrolether/Ethylacetat (2 : 1, v/v) zeigte nach 30 Minuten eine vollständige Umsetzung, mit einem neuen Fleck bei $R_f = 0,41$. Die Mischung wurde mit Dichlormethan (200 ml) verdünnt und dann mit 1 M wäßrigem Natriumcarbonat (500 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet (Na_2SO_4), filtriert und im Vakuum eingedampft und ergab die 6-(2,6-Dichlorphenoxy)-Verbindung als Schaum (41,2 g, 98,5%), der durch Verdampfung mit trockenem Acetonitril (2 x 200 ml) im Vakuum getrocknet wurde. Der Schaum wurde in wasserfreiem Acetonitril (140 ml) unter Argon gelöst, und unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluß wurden BDDDP (17,3 ml, 59,7 mMol) und Methyljodid (3,72 ml, 59,7 mMol) zugefügt. Dünnschichtchromatographie an Silicagel in Petrolether/Ethylacetat (1 : 1, v/v) zeigte, daß die Methylierung nach 5 Stunden zum Großteil vervollständigt war, und es zeigte sich ein von dem gewünschten Produkt hervorgerufener intensiver Fleck bei $R_f = 0,57$, und schwache Flecken bei $R_f = 0,5, 0,23$ und 0. Die Reaktionsmischung wurde im Vakuum zur Trockne eingeengt.

10 Zum Rückstand wurde Ethylacetat (90 ml), und dann Petrolether (270 ml) zugefügt und gerührt. Das unlösliche Hydrojodid-Salz des BDDDP wurde abfiltriert, und das Filtrat wurde in vier aliquoten Teilen durch préparative Flüssigkeitschromatographie unter Verwendung von Petrolether/Ethylacetat (3 : 1, v/v) als Eluens gereinigt. Die reine Verbindung XXIV wurde als fester weißer Schaum erhalten (26,65 g, Ausbeute = 62,5%).

15

20 ^{13}C NMR-Spektrum (CDCl_3) δ : 158,12 (C-6), 153,13 und 152,54 (C-2 und C-4), 144,66 (Phenyl C-1), 142,43 (C-8), 128,77 (Phenyl C-2 und 6), 128,52 (Phenyl C-3 und 5), 127,12 (Phenyl C-4), 120,51 (C-5), 88,26 (C-1'), 83,10 (C-2'), 81,16 (C-4'), 69,54 (C-3'), 59,61 (C-5'), 59,29 ($\text{CH}_3\text{-O}$), 17,19 – 16,63 (Isopropyl CH_3 s), 13,16, 12,70 und 12,29 p.p.m. (Isopropyl CHs).

25 Die Ausbeute beträgt im allgemeinen 60 bis 62%, und ca. 12% Ausgangsmaterial werden zurückgewonnen, das rezykliert werden kann und dann eine Gesamtausbeute der Methylierung von ca. 70% ergibt. Die Produkt-abtrennung durch préparative HPLC ist einfach und die Reaktion kann leicht mit großen Ansätzen (> 100 mMol) durchgeführt werden.

30 Zum Vergleich wurde die Methylierung mit 1 Mol-Äquivalent Silberoxid und 2 Mol-Äquivalenten Methyljodid in trockenem 2-Butanon durchgeführt; dabei wurde das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von weniger als 20% nach einer Reaktionszeit von 2 Wochen erhalten, und es konnte kein Ausgangsmaterial zurückgewonnen werden. Trotz der relativ starken sterischen Hinderung ist die vorherrschende Reaktion die Methylierung des Heterozyklus. Mit dem erfundungsgemäß eingesetzten BDDDP wird die OH-Gruppe in 2'-Stellung des Riboserestes stark aktiviert, ohne daß dabei eine Spaltung der Disiloxan-Brücke erfolgt, wodurch die Methylierung im wesentlichen nur an der OH-Gruppe stattfindet und praktisch keine Methylierung des Heterozyklus, soweit dort keine reaktiven H-Atome vorliegen, die geschützt werden. Auch die Bildung von Isomeren wird verhindert.

Beispiel 2

Herstellung von 2'-O-Allyl-3',5'-O-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-6-(2,6-dichlorphenoxy)-purinribosid

35 45 3',5'-O-(Tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-6-(2,6-dichlorphenoxy)-purinribosid (6,56 g, 10 mMol) wurde durch Verdampfen mit wasserfreiem Acetonitril im Vakuum getrocknet. Der erhaltene weiße Schaum wurde in wasserfreiem Acetonitril (20 ml) gelöst, und BDDDP (2,89 ml, 10 mMol), gefolgt von Allylbromid (865 μl , 10 mMol) wurden unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluß zugegeben. Silicagel-Dünnschichtchromatographie in Petrolether/Ethylacetat (2 : 1, v/v) zeigte nach 6 Stunden einen von dem gewünschten Produkt hervorgerufenen intensiven Fleck bei $R_f = 0,52$, einen Fleck bei $R_f = 0,29$, von ca. 10% zurückbleibendem Ausgangsmaterial und einen schwachen Basislinienfleck. Es wurde weiteres BDDDP und Allylbromid (je 1 mMol) zugefügt, und die Reaktion weitere 2 Stunden fortgesetzt. Die dünnschichtchromatographische Analyse zeigte praktisch kein verbleibendes Ausgangsmaterial mehr. Die Reaktionsmischung wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft, und der zurückbleibende Schaum wurde in Dichlormethan (200 ml) gelöst. Die Lösung wurde mit Phosphatpuffer pH = 7 (300 ml, 1 M) gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde in Dichlormethan (20 ml) gelöst und die Lösung auf eine Kieselgel 60-Säule (120 g) in Petrolether/Ethylacetat (6 : 1, v/v) aufgebracht. Die Säule wurde mit Petrolether/Ethylacetat (6 : 1, v/v) unter einem leichten Stickstoffdruck eluiert und der Ausfluß durch Dünnschichtchromatographie überwacht. Die reinen Fraktionen wurden gesammelt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die reine Titelverbindung wurde als weißer Schaum erhalten (3,6 g, Ausbeute = 52%).

50 55 ^{13}C NMR-Spektrum (CDCl_3) δ : 157,81 (C-6), 151,92 (C-4), 151,23 (C-2), 145,00 (Phenyl C-1), 141,61 (C-8), 133,81 (Allyl CH), 128,97 (Phenyl C-2 und C-6), 128,25 (Phenyl C-3 und C-5), 126,59 (Phenyl C-4), 121,38 (C-5), 116,73 (Allyl = CH_2), 88,43 (C-1'), 81,07 (C-4'), 80,60 (C-2'), 71,35 (Allyl CH_2 -O), 69,07 (C-3'), 59,45 (C-5'), 17,02-16,48 (Isopropyl CH_3 s), 12,98, 12,49 und 12,25 p.p.m. (Isopropyl CHs).

60 65 Wird die Allylierung in einem größeren Ansatz durchgeführt und das Produkt durch préparative Flüssigkeitschromatographie isoliert, dann kann die Ausbeute auf ca. 70 bis 75% gesteigert werden.

Beispiel 3

2'-O-(2-Nitrobenzyl)-3',5'-O-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-6-(2,6-dichlorphenoxy)-purinribosid

3',5'-O-(Tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-6-(2,6-dichlorphenoxy)-purinribosid (656 mg, 1 mMol) wurden durch Verdampfung mit wasserfreiem Acetonitril im Vakuum getrocknet. Der erhaltene Schaum wurde in wasserfreiem Acetonitril (3 ml) gelöst, und unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluß BDDDP (289 µl, 1 mMol), gefolgt von 2-Nitrobenzylbromid (216 mg, 1 mMol) zugefügt. Nach 5 Stunden zeigte eine Dünnschichtchromatographie an Silicagel in Petrolether/Ethylacetat (2 : 1, v/v), daß die Nitrobenzylierung zum Großteil vervollständigt war, und es zeigte sich ein von dem gewünschten Produkt hervorgerufener intensiver Fleck bei $R_f = 0,44$, und ein vom Ausgangsmaterial hervorgerufener Fleck bei $R_f = 0,29$, und schwache Flecken bei $R_f = 0,55, 0,36, 0,08$ und 0. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgedampft und hinterließ einen schach gelben Schaum. Dieser Schaum wurde in Dichlormethan (50 ml) gelöst und die Lösung mit Phosphatpuffer pH = 7 (2 × 50 ml, 1 M) gewaschen. Die abgetrennte organische Schicht wurde getrocknet (Na_2SO_4), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde in Dichlormethan aufgenommen (2 ml) und auf eine Kieselgel 60-Säule (12 g) in Petrolether/Ethylacetat (6 : 1, v/v) aufgebracht.

Die Säule wurde mit Petrolether/Ethylacetat (6 : 1, v/v) unter Stickstoffdruck eluiert und der Ausfluß wurde mittels Dünnschichtchromatographie überwacht. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde die reine Titelverbindung als cremefarbener Schaum erhalten (420 mg, 53%).

^{13}C NMR-Spektrum (CDCl_3): δ : 158,07 (C-6), 152,09 (C-4), 151,60 (C-2), 147,08 (C-2 von Nitrobenzyl), 145,18 (C-1 von Dichlorphenyl), 141,64 (C-8), 134,45 (C-1 von Nitrobenzyl), 133,33 (C-5 von Nitrobenzyl), 129,21 (C-2 und C-6 von Dichlorphenyl), 128,54 (C-3 und C-5 von Dichlorphenyl), 128,39 (C-4 von Nitrobenzyl), 127,80 (C-6 von Nitrobenzyl), 126,89 (C-4 von Dichlorphenyl), 124,38 (C-3 von Nitrobenzyl), 121,64 (C-5), 88,43 (C-1'), 82,10 (C-4'), 81,45 (C-2'), 69,54 (C-3'), 69,37 (CH_2 von Nitrobenzyl), 59,58 (C-5'), 17,26—16,69 (Isopropyl CH_3 s), 13,24, 12,76, 12,69 und 12,52 p.p.m. (Isopropyl CH_2 s).

5

10

15

20

25

30

35

40

45

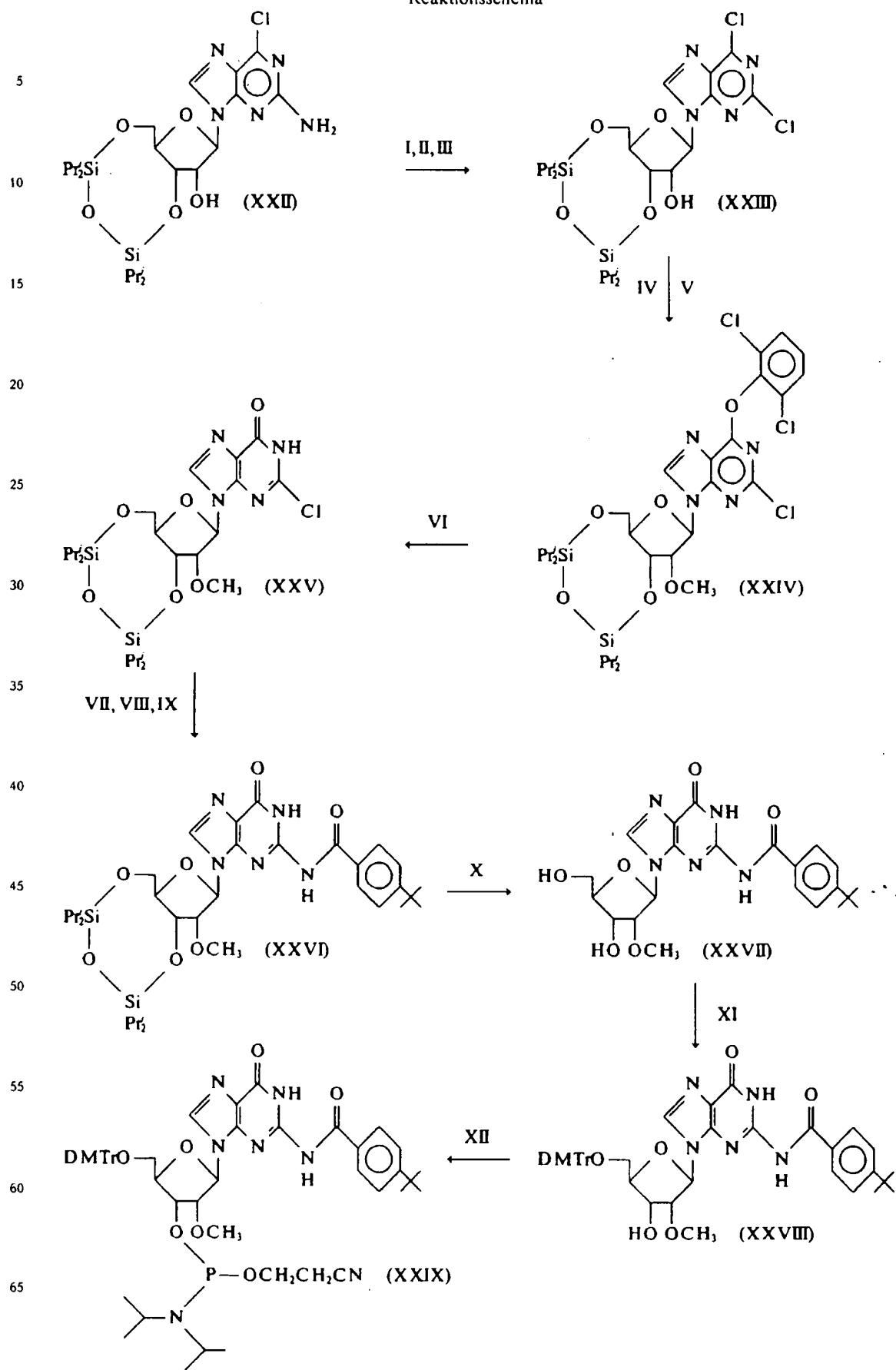
50

55

60

65

Reaktionsschema



Patentansprüche

1. Verwendung von 2-tert.-Alkylimino-2-di-C₁-4-alkylamino-1,3-di-C₁-3-alkyl-perhydro-1,3,2-diazaphosphorin zur O-Substitution geschützter Ribonukleoside mit Alkyl-, Alkenyl- oder Aralkylgruppen in Gegenwart der entsprechenden Gruppenüberträgerverbindungen. 5
2. Verwendung nach Anspruch 1 zur O-Alkylierung oder O-Alkenylierung von 3',5'-O-geschützten Ribonukleosiden.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß man als Alkylierungsmittel Methyljodid verwendet.
4. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß man als Alkenylierungsmittel Allylbromid verwendet. 10
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur O-Substitution von 3',5'-O-(Tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-geschützten Pyrimidin- oder Purinribonukleosiden.
6. Verfahren zur O-Substitution geschützter Ribonukleoside mit Alkyl-, Alkenyl- oder Aralkylgruppen, dadurch gekennzeichnet, daß man die Substitution mit einer den gewünschten Substituenten übertragenden Verbindung in Gegenwart von 2-tert.-Alkylimino-2-di-C₁-4-alkylamino-1,3-di-C₁-3-alkylperhydro-1,3,2-diazaphosphorin durchführt. 15
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man in Gegenwart von 2-tert.-Butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethylperhydro-1,3,2-diazaphosphorin (BDDDP) substituiert.
8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß man als den gewünschten Substituenten übertragende Verbindung ein Alkylhalogenid, Alkenylhalogenid oder, gegebenenfalls substituiertes, Benzylhalogenid verwendet. 20
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß man die Umsetzung in einem inerten wasserfreien polaren organischen Lösungsmittel durchführt.
10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß man die Reaktion in wasserfreiem Acetonitril durchführt. 25
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß man die den gewünschten Substituenten übertragende Verbindung und das Diazaphosphorin in äquivalenten Mengen einsetzt.
12. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß man 3',5'-O-geschützte Ribonukleoside einsetzt. 30
13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß man 3',5'-O-(Tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-geschützte Pyrimidin- oder Purinribonukleoside O-alkyliert oder -alkenyliert.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß man zur O-Alkylierung Methyljodid einsetzt.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß man zur O-Alkenylierung Allylbromid einsetzt. 35

40

45

50

55

60

65

— Leerseite —